Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 4e sér., **1**, 1979,
section B, n° 1 : 53-63.

Étude cytophotométrique de l'ADN nucléaire chez quelques espèces du genre *Bupleurum* L. (Umbelliferae)

par Anne-Marie Cauwet-Marc *

Mots-clés : ADN nucléaire, Polyploïdie, Races chromosomiques, Nombres de base, Évolution, Phylogénie. — *B. junceum* L., *B. multinerve* DC., *B. ranunculoides* L., *B. rigidum* L. subsd. *rigidum*.

Résumé. — Le dosage de l'ADN nucléaire par la méthode cytophotométrique de la double longueur d'onde a été réalisé chez quelques espèces du genre *Bupleurum* L. Plusieurs problèmes ont été abordés concernant les relations qui existent, d'une part entre la quantité d'ADN nucléaire et les différents degrés de polyploïdie (races chromosomiques de *B. ranunculoides* L.), d'autre part entre la quantité d'ADN nucléaire, les types biologiques (vivace ou annuel) et les nombres de base (x = 7 ou x = 8) (étude de *B. junceum* L., *B. multinerve* DC., *B. rigidum* L. subsp. *rigidum*).

Abstract. — *A cytophotometric study of nuclear DNA in several species of the genus* Bupleurum *L. (Umbelliferae)*. — Quantitation of nuclear DNA by a double wavelength cytophotometric technique was carried out for several species of the genus *Bupleurum* L. Several problems were considered concerning the relationships which exist on the one hand between the quantity of nuclear DNA and the different degrees of polyploidy (chromosomic races of *B. ranunculoides* L.), and on the other hand between the quantity of nuclear DNA, the biological type (perennial or annual) and the basic numbers (x = 7 or 8) (study of *B. junceum* L., *B. multinerve* DC., *B. rigidum* L. subsp. *r igidum*).

L'étude caryologique de 322 populations rattachées au genre *Bupleurum* L., juxtaposée à un ensemble de résultats précédemment acquis a permis de mettre en évidence, à côté de plusieurs cas intéressants de dysploïdie (*B. atlanticum* Murb., *B rigidum* L.) et d'aneuploïdie (*B. mairei* Panel. et Vindt., *B. montanum* Coss.), un nombre élevé d'espèces polyploïdes (paléopolyploïdes et mésopolyploïdes rattachés au sous-genre *Tenoria* (Sprengl.) Cauwet et localisés essentiellement dans le Bassin méditerranéen occidental ; néopolyploïdes rattachés au sous-genre *Bupleurum* et dont l'aire de répartition intéresse plus particulièrement l'Eurasie). Par ailleurs, à la suite de ces travaux, cinq nombres de base différents (x = 4, 6, 7, 8 et 11) sont actuellement reconnus pour le genre.

L'intérêt phylogénique présenté par ces différents problèmes nous a dès lors conduite à rechercher leur traduction au niveau génétique par l'intermédiaire du dosage de leur ADN nucléaire.

Dans un premier temps, nous avons tenté de résoudre deux problèmes très précis : d'une part, les mécanismes de l'évolution chromosomique par polyploïdie, d'autre part, les modifications de la quantité d'ADN en fonction des différents nombres de base.

* *Laboratoire de Biologie Végétale, Centre Universitaire, 66025 Perpignan cedex.*

Le premier problème a été abordé chez *B. ranunculoides* L. pour lequel nous disposions de populations diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes ; le second, qui a utilisé comme matériel d'étude des populations de *B. rigidum* L. subsp. *rigidum* (espèce vivace à x = 8), de *B. junceum* L. (espèce annuelle à x = 8) et de *B. multinerve* DC. (espèce vivace à x = 7), nous a permis de combiner successivement le type biologique (vivace ou annuel) et les deux nombres de base (x = 7 et x = 8) les plus représentés dans le genre.

I. Méthodes

Depuis qu'il a été démontré que l'ADN contenait l'information génétique, les scientifiques ont cherché à apprécier quantitativement celle-ci par l'intermédiaire du dosage de son support chimique. Indépendamment des restrictions théoriques inhérentes à ces tentatives, les chercheurs se sont heurtés à des problèmes technologiques non encore parfaitement résolus.

Cependant, après de très nombreux essais dans ce domaine, il est actuellement possible de subdiviser les méthodes de dosage en deux catégories : celles basées sur l'extraction biochimique suivie d'une purification et qui permettent d'aboutir à un dosage pondéral par spectrophotométrie, et celles dites cytophotométriques, effectuées directement sur le noyau par mesure colorimétrique après réaction de Feulgen.

Si les premières peuvent laisser présager des différenciations plus fines par suite de séparations sélectives, les secondes ont hérité aujourd'hui d'une technologie plus fiable. C'est la raison pour laquelle, après avoir tenté quelques essais fondés sur le premier principe [1] nous avons retenu l'une des techniques qui repose sur le second : mesure cytophotométrique de l'ADN nucléaire total par la méthode dite de la double longueur d'onde. Celle-ci permet, non seulement une bonne reproductibilité, mais fournit également un moyen statistique de définir les phases du cycle mitotique appréhendées. Il s'agit d'une appréciation relative, basée sur la loi de Beer-Lambert, de la quantité d'ADN de noyaux choisis sur des coupes fines colorées par la réaction de Feulgen.

Cette technique a été appliquée soit à des boutons floraux, soit à des méristèmes radiculaires. Ceux-ci sont fixés durant 24 heures dans le F.A.A., puis transférés pour conservation dans de l'alcool à 70°. Le matériel est ensuite inclus dans la paraffine à 56-58° coupée à 8 μm d'épaisseur, étalé sur lame, puis coloré selon la technique préconisée par Le Coq (1972). Nous nous sommes efforcée d'opérer dans des conditions standard et de traiter chaque problème en une seule opération de la manière suivante : les lames sont plongées 1 mn dans HCl N/1 froid puis 15 mn dans HCl N/1 à 60°, enfin 1 mn dans HCl N/1 froid. Après un séjour de 2 h 30 dans le réactif de Schiff (produit sous cachet Gurr's), elles sont lavées 10 mn à l'eau courante puis passées dans 2 bains successifs de métabisulfite de sodium durant 10 mn. Après lavage à l'eau courante (30 mn) et déshydratation, les coupes sont montées au Baume du Canada.

Les mesures sont effectuées à l'aide du microcytophotomètre MPV Leitz.

Les quantités d'ADN sont déterminées selon la méthode de la double longueur d'onde (Ornstein, 1952 ; Patau, 1952). Le choix de ces longueurs d'onde a été effectué selon la

1. A cette occasion nous remercions très amicalement Françoise Grellet (Laboratoire de Physiologie végétale, Université de Perpignan) qui a bien voulu prendre en charge ces manipulations.

technique préconisée par Mendelsohn (1966) et Garcia & Ioro (1966). Elles ont été définies comme étant respectivement égales à :

— 485 et 570 nm, pour l'étude de la variation interspécifique (traitée sur des racines de *B. ranunculoides* L., x = 7 et *B. multinerve* DC., x = 7, taxons diploïdes),

— 470 et 570 nm, pour l'étude de la variation en fonction du type biologique (traitée sur les racines de *B. rigidum* L. vivace et de *B. junceum* L. annuel, x = 8, taxons diploïdes),

— 460 et 570 nm, pour l'étude de la variation en fonction du nombre de base (traitée sur des racines de *B. multinerve* DC., x = 7, et de *B. rigidum* L., x = 8, taxons diploïdes),

— 515 et 560 nm, pour l'étude de la variation en fonction du degré de polyploïdie (traitée sur des racines de *B. ranunculoides* L., taxons di, tétra, hexaploïdes).

Afin de résoudre les problèmes ainsi posés nous avons effectué 50 à 100 mesures pour chacune des espèces ; les noyaux ont tous été choisis au stade quiescent ; il s'agissait de noyaux localisés dans les tissus périphériques de la racine, au-dessus de la zone méristématique. Le choix des noyaux déterminés comme quiescents implique que nous nous trouvions dans la phase G 1 du cycle mitotique et donc que leur quantité d'ADN soit égale à 2 C « component » (C étant le symbole de « component » correspondant à n chromosomes de l'espèce considérée). Si certains noyaux quiescents se trouvaient à la limite de cette phase G 1 (et donc possédaient une quantité d'ADN supérieure à 2 C), ce qu'il est impossible de dire sur une simple observation, le nombre élevé de noyaux isolés (50 à 100) qui s'ordonnent selon une distribution normale nous a facilement permis de les repérer lors de la construction des histogrammes dans lesquels ils ne s'intégraient pas.

Comme Guervin, Le Coq et Laroche (1975), nous nous sommes adressée non seulement à la quantité d'ADN intranucléaire de chaque espèce envisagée, exprimée en unités arbitraires UAF (unité d'absorption des radiations après coloration par la méthode de Feulgen), mais également à la quantité d'ADN par chromosomes et à la densité en ADN des chromosomes [1] en extrapolant les résultats trouvés sur les noyaux quiescents à 2 C.

II. Relations entre la quantité d'ADN et le degré de polyploïdie

L'étude des relations entre la quantité d'ADN nucléaire et la polyploïdie a été abordée chez *Bupleurum ranunculoides* L. au niveau de trois races chromosomiques : diploïde, tétraploïde et hexaploïde. Notre travail avait pour but de savoir si les différentes races chromosomiques mises en évidence chez ce taxon étaient le résultat de phénomènes d'auto ou allopolyploïdie.

Bien que depuis une vingtaine d'années de nombreux travaux aient été effectués dans ce sens, aucun d'entre eux n'a eu pour base les Ombellifères ; ceux de Mello-Sampayo (1961) et Halka (1964) se rapportent aux Luzules, celui d'Amato et Avanzi (1965) au genre *Marsilea* (Ptéridophytes), ceux de Rothfels *et al.* (1966 et 1968) aux Renonculacées

1. La densité d'ADN est donnée par la quantité totale d'ADN exprimée en unités UAF rapportée à la somme des volumes de tous les chromosomes (volume en μm^3, calculé d'après des mesures effectuées sur 10 plaques métaphasiques ; l'ensemble des chromosomes est assimilé à un cylindre dont le diamètre et la hauteur correspondent respectivement à la largeur moyenne D et à la longueur totale de ces chromosomes ; les mesures sont données en μm).

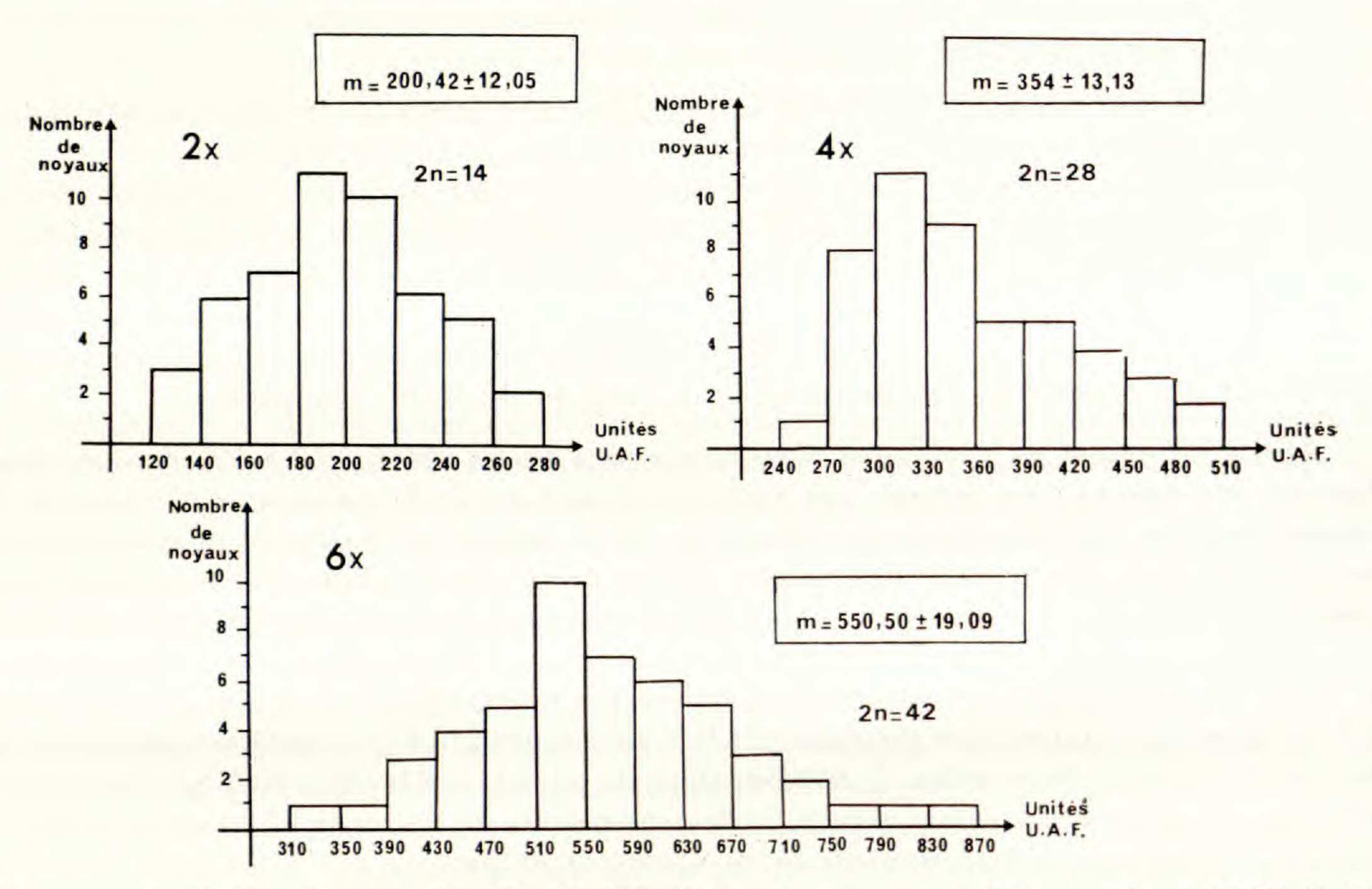


FIG. 1. — Distribution des quantités d'ADN à l'intérieur des trois races chromosomiques de *Bupleurum ranunculoides* L.

et aux Droseracées et, plus près de nous, PROBST (1972) s'est intéressée au genre *Leucanthemum* (Composées). Dans ce dernier travail, l'auteur montre que la teneur en ADN des taxons diploïdes, tétraploïdes et octoploïdes s'établit selon le rapport 1 ; 1,98 ; 2,5 et non selon le rapport théorique de 1 ; 2 ; 4 ; selon lui, « l'écart par rapport à la valeur théorique est expliqué par l'origine hybride des plantes octoploïdes, ce qui confirme les résultats obtenus par des hybridations et des observations cytologiques antérieures ».

Les résultats que nous avons obtenus chez *B. ranunculoides* L. s'établissent comme suit (fig. 1) :

race diploïde [1] 2 n = 14 Q ADN = 200,42 ± 12,05
race tétraploïde [2] 2 n = 28 Q ADN = 354 ± 13,13 ; rapport à 1 : 1,77
race hexaploïde [3] 2 n = 42 Q ADN = 550,50 ± 19,09 ; rapport à 1 : 2,25

Ces valeurs permettent de constater que si la polyploïdie s'accompagne toujours d'une augmentation des quantités totales d'ADN, cette augmentation n'est pas proportionnelle à celle des nombres chromosomiques, et cela dès le niveau tétraploïde, ce qui est

1. Population n° 4003 : pelouse à *Festuca duriuscula* L. à proximité de Chapelle de Belloc (Dorres : Pyrénées Orientales) 1 600 m.
2. Population n° 4009 : pelouse à *Festuca paniculata* L. au port de Pailhères (Pyrénées ariégeoises) 2 200 m.
3. Population n° 4071 : rocailles calcaires au Creux du Van (Jura suisse).

semblable aux résultats de GUERVIN, LE COQ et LAROCHE (1975) chez le genre *Callisia* (Commelinacées). Rappelons que plusieurs auteurs avaient admis jusque là que les quantités totales d'ADN croissaient de façon directement proportionnelle au degré de polyploïdie, exception faite pour les genres *Morus* (Moracées) et *Triticum* (Graminées) (ALI-ZADE et ACHUNDOVA, 1970, et NISHILILKAWA et FURULA, 1969) chez lesquels « la proportionnalité » n'était plus respectée au-delà de l'hexaploïdie.

Il faut donc admettre que tout processus de polyploïdisation entraîne une perte relative de la quantité de chromatine. Il pourrait s'agir en fait, comme le supposent SPARROW *et al.* (1972), de la perte d'ADN non fonctionnel, c'est-à-dire de celui qui n'est pas utilisé dans la codification du génotype.

Dans le cas de *B. ranunculoides* L., la valeur de cette perte lors du passage du diploïde au tétraploïde est 12,5 % lorsqu'elle est exprimée en quantité globale d'ADN (Q ADN), ou en quantité d'ADN par chromosome $\frac{(\text{Q ADN})}{2\text{ n}}$ et de 12 % lorsqu'elle est exprimée en quantité d'ADN $\frac{(\text{Q ADN})}{\text{V}}$; selon le mode d'expression cette perte est donc comprise entre 12 % et 12 5 %. Or PROBST (*loc. cit.*) trouve dans un cas comparable une perte de 37 % que l'auteur explique, sur la base d'autres données, par une allopolyploïdie. On peut donc

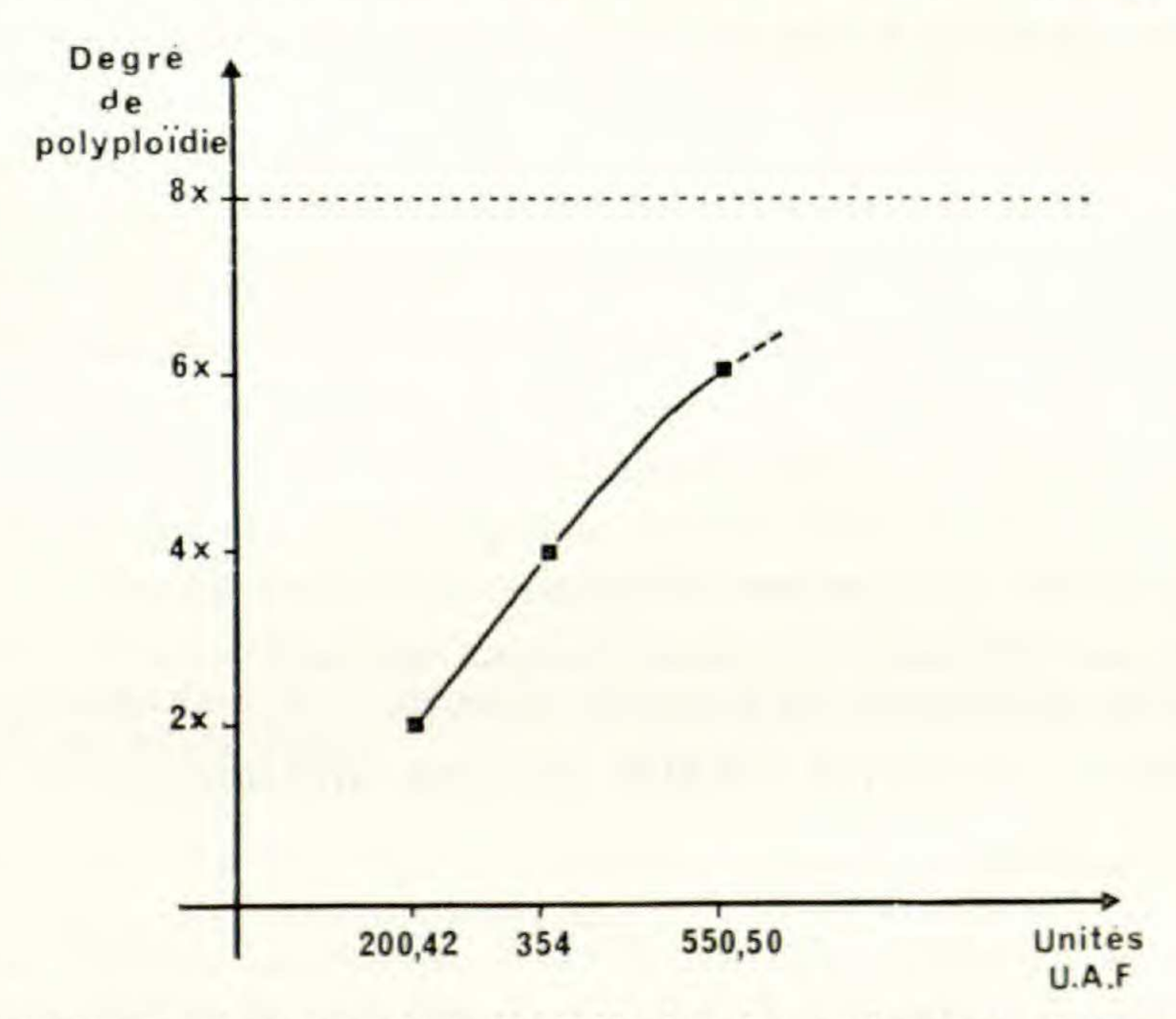


FIG. 2. — Courbe de distribution des quantités d'ADN chez les trois races chromosomiques de *Bupleurum ranunculoides* L.

être conduit à penser que, si tel était notre cas, les valeurs de la perte en ADN seraient nettement supérieures à 12 %. C'est la raison pour laquelle nous pensons que les résultats obtenus par nous peuvent être considérés comme étant plutôt le reflet d'un phénomène d'autopolyploïdie et cela d'autant plus qu'un argument supplémentaire peut être trouvé dans les valeurs respectives des volumes chromosomiques qui sont identiques chez le diploïde et chez le tétraploïde ($\text{V}/2\text{ n} = 0{,}5\ \mu\text{m}^3$).

Par ailleurs, et en ce qui concerne le taxon hexaploïde la quantité d'ADN nucléaire totale mise en évidence correspond très exactement à celles du diploïde et du tétraploïde réunies ; il n'est donc pas exclu de penser qu'il s'agit là d'un amphidiploïde. Le fait qu'il n'y ait pas encore eu de perte d'ADN traduirait, semble-t-il, son origine récente, hypothèse que seule la multiplicité d'observations de cette nature permettrait d'infirmer ou de confirmer.

Les données ainsi établies sont en accord avec les conclusions déjà citées sur la base de résultats biométriques (Cauwet-Marc, 1976). Il convient cependant d'être très prudent, étant donné le doute que laisse planer la formation des taxons étudiés selon leur origine géographique. En effet, nous avons travaillé ici, d'une part, sur un diploïde et un tétraploïde pyrénéens et d'autre part, sur un hexaploïde jurassien ; or, d'autres considérations laissent supposer, pour les taxons rattachés au *B. ranunculoides* L., deux évolutions différentes selon qu'elles ont eu lieu dans les Alpes ou dans les Pyrénées (Kupfer, 1974). Ceci pourrait entacher quelque peu les conclusions auxquelles l'étude des quantités d'ADN nous conduisent.

Nous pouvons cependant, à partir des quantités d'ADN correspondant au diploïde, au tétraploïde et à l'hexaploïde, construire une courbe mettant en évidence la relation : Q ADN — degré de polyploïdie (fig. 2). Bien que celle-ci ne soit construite qu'à partir de trois points, il est évident que son extrapolation voit sa progression diminuer au-delà de l'hexaploïdie. S'il était possible d'obtenir l'intersection de cette courbe avec l'axe des octoploïdes, ce point aurait pour abscisse une valeur en ADN telle, qu'il est improbable qu'elle puisse exister ; l'octoploïdie chez *B. ranunculoides* L. apparaît dès lors comme peu vraisemblable.

Si une telle hypothèse, que nous annonçons cependant avec beaucoup de prudence (car il conviendrait de la vérifier sur de nombreux exemples), devait s'avérer généralisable, elle pourrait permettre d'expliquer pourquoi les taxons du sous-genre *Tenoria* (Spreng.) Cauwet n'ont jamais dépassé le stade tétraploïde (qui est leur stade de polyploïdie maximum), pourquoi certains ne se sont jamais polyploïdisés et prévoir le degré de polyploïdisation maximum possible que pourra atteindre un taxon donné.

III. Relations entre la quantité d'ADN, le type biologique et le nombre de base des espèces

L'utilisation de la quantité globale d'ADN nucléaire comme critère d'évolution à l'intérieur d'un groupe de taxons doit tenir compte des deux remarques suivantes : S'il est généralement admis que la quantité d'ADN augmente depuis les organismes inférieurs jusqu'à un certain point qui se situe approximativement au niveau des Cryptogames vasculaires, pour décroître ensuite, il est permis d'imaginer, sur cette courbe évolutive, des ramifications qui pourraient prendre naissance au niveau du genre, constituant ainsi des microphyllums qui posséderaient leur évolution propre. Si certains travaux montrent que, « dans un genre, les espèces à nombres chromosomiques égaux peuvent posséder des quantités d'ADN différentes » (Guervin *et al.*, 1975), d'autres indiquent, par contre, « qu'à nombres chromosomiques égaux, les espèces d'un même genre présentent des quantités d'ADN semblables » (El Lakany, 1972 et Bullen et Rees, 1972).

Afin de connaître le comportement de l'ADN à l'intérieur du genre *Bupleurum* L. et pour tenir compte de ces deux points de vue, nous avons choisi plusieurs espèces en prenant soin de considérer à la fois des nombres de base et des types biologiques soit identiques, soit différents.

Quatre espèces ont été choisies : *B. ranunculoides* L. (2 n = 14), *B. multinerve* DC. (2 n = 14), *B. rigidum* L. subsp. *rigidum* L. (2 n = 16) et *B. junceum* L. (2 n = 16). Un simple examen permet de caractériser rapidement cet ensemble : toutes les espèces choisies sont diploïdes ; les 2 premières ont pour nombre de base 7 ; parmi les espèces ayant un nombre de base égal à 8, l'une est vivace (*B. rigidum* L.), l'autre est annuelle [1] (*B. junceum*).

TABLEAU I. — Résultats des dosages d'ADN.

ESPÈCE	2 n	L	D	V	Q ADN	$\frac{V}{2n}$	$\frac{Q\ ADN}{2n}$	$\frac{Q\ ADN}{V}$
B. junceum L.	16	75	0,5	15	173,67 ± 9,52 174	0,9	11	12
B. rigidum L.	16	56	0,5	11	263 ± 15,13 263	0,7	16	24
B. multinerve DC.	14	35	0,5	7	212,5 ± 6,90 213	0,5	15	30
B. ranunculoides L.	14	37	0,5	7	200,42 ± 12,05 200	0,5	14	29
	28	70	0,5	14	354 ± 13,13	0,5	14	25
	42				550,5 ± 19,09		13	

$V = L \times (\frac{1}{2} D)^2 \times \pi$; L = longueur moyenne totale de l'ensemble des chromosomes d'un noyau (moyenne obtenue sur 10 noyaux) ; D = diamètre moyen d'un chromosome (moyenne obtenue sur l'ensemble des chromosomes de 10 noyaux).

Les résultats obtenus, donnés dans le tableau I, nous permettent de proposer, pour le genre *Bupleurum* L., les conclusions suivantes :

1. Pour un même degré de ploïdie et un même nombre de base (fig. 3) la quantité totale d'ADN nucléaire ne varie pas de manière « significative » lorsque les deux espèces appartiennent au même type biologique. *B. multinerve* DC. et *B. ranunculoides* L., deux espèces vivaces à x = 7, ont respectivement pour quantité d'ADN total 212 UAF et 200 UAF. L'indice de t est de 1,7 [2].

1. *B. aira* Snog. et *B. gracile* d'Urv sont, à notre connaissance, les seules espèces annuelles ayant pour nombre de base 7 (SNOGERUP, 1962). L'absence de graines ne nous a pas permis de les comparer à des espèces vivaces ayant le même nombre.

2. Selon les tables de Fischer l'indice de t (tc) est « significatif » au-dessus de 1,96 (risque 5 %), « hautement significatif » au-dessus de 2,57 (risque 1 %).

2. Pour un même degré de ploïdie et un même nombre de base (fig. 4) la quantité totale d'ADN varie de manière hautement « significative » selon que l'on a affaire à une espèce annuelle ou à une espèce vivace. *B. rigidum* L. espèce vivace (x = 8) Q ADN : 263 UAF ; *B. junceum* L. espèce annuelle (x = 8) Q ADN : 174 UAF. Indice de t = 9,9.

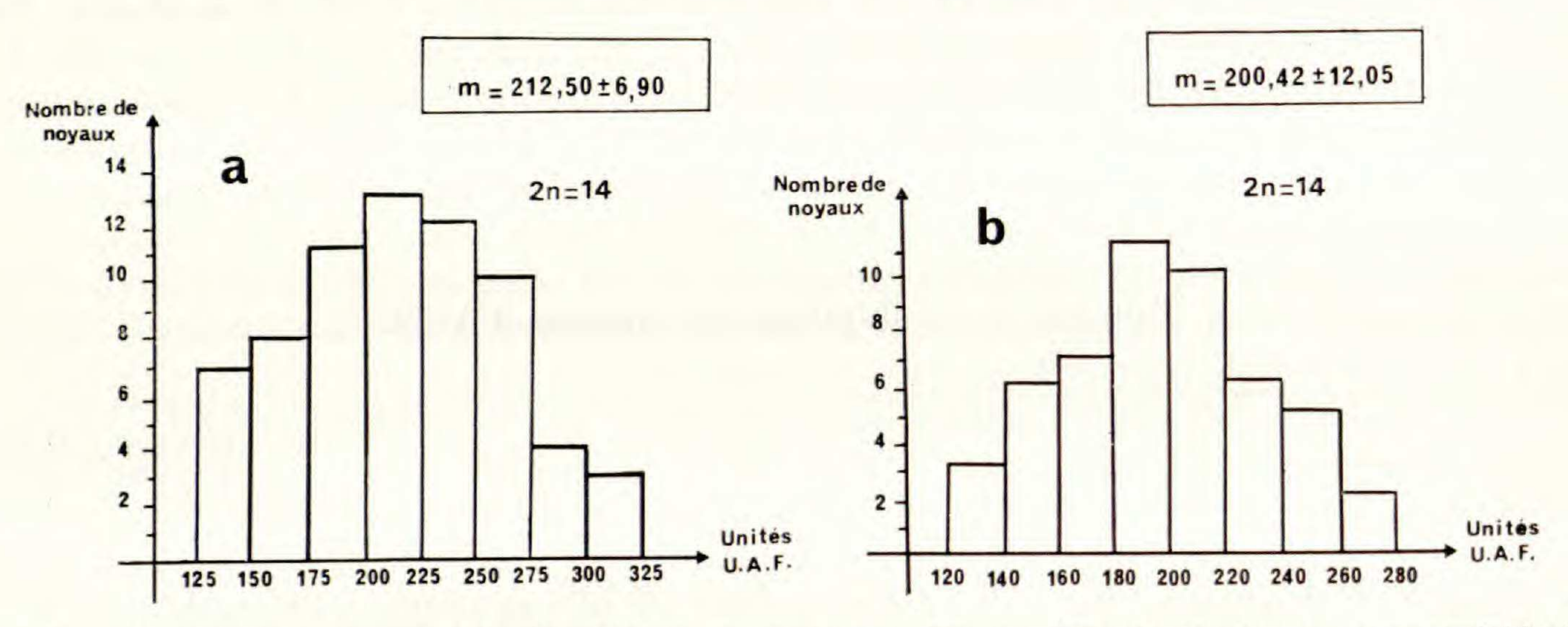


Fig. 3. — Distribution des quantités d'ADN : a, *Bupleurum multinerve* DC. ; b, *Bupleurum ranunculoides* L

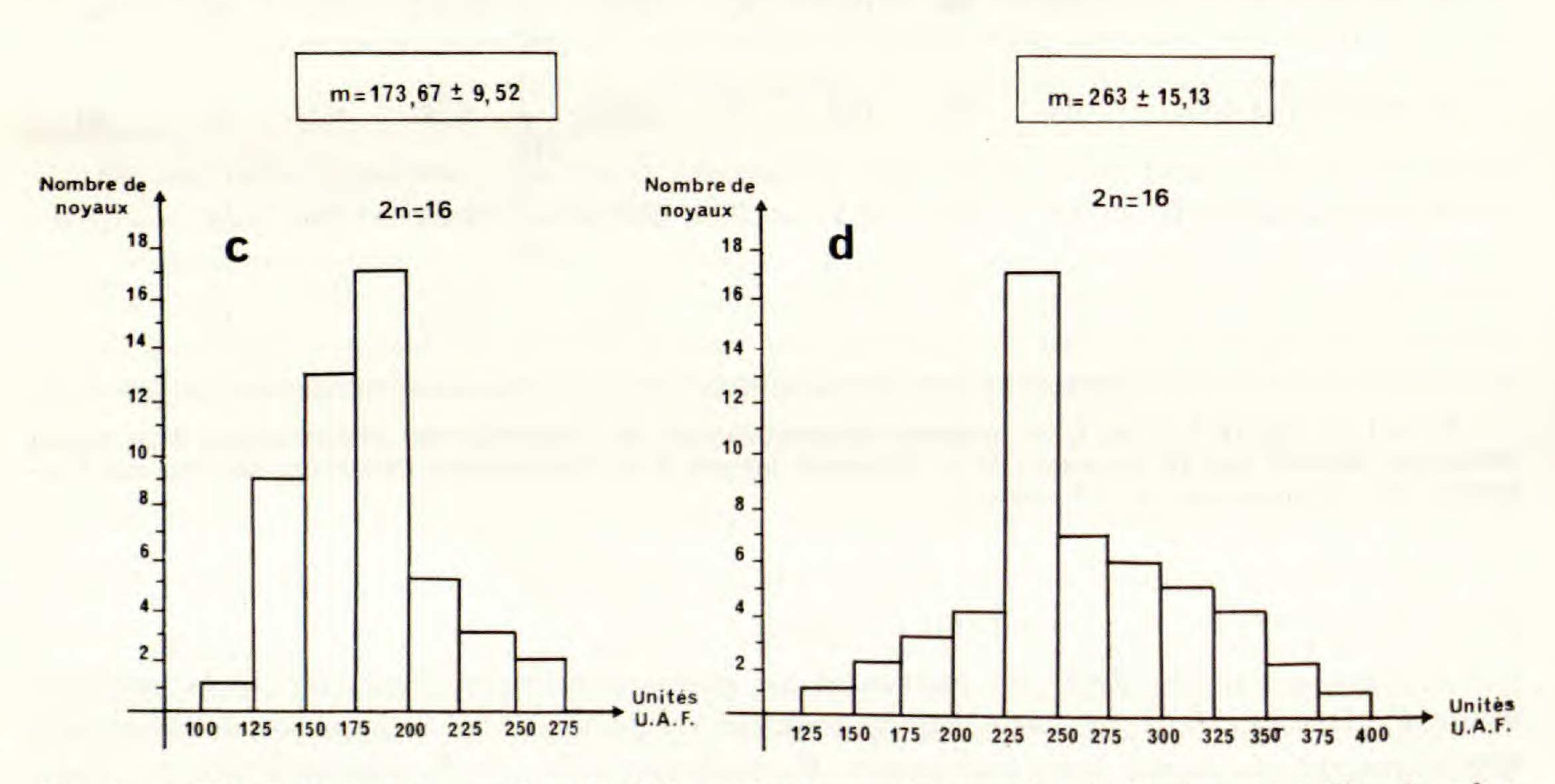


Fig. 4. — Distribution des quantités d'ADN : c, *Bupleurum junceum* L. ; d, *Bupleurum rigidum* L. subsp. *rigidum*.

La règle selon laquelle à partir d'un certain niveau d'évolution le taux d'ADN varie en fonction inverse de celui-ci se trouve ici confirmée : des quatre espèces étudiées, la seule espèce annuelle a le taux global d'ADN nucléaire le plus bas ; ce résultat, qui s'appuie sur le principe voulant que, dans un genre donné, les espèces annuelles sont plus évoluées

que les espèces vivaces desquelles elles dérivent, est confirmé par ailleurs par les cotes évolutives se rapportant à chacun de ces taxons (*cf.* Roux et *al.*, 1978).

3. La quantité d'ADN nucléaire total varie de façon « significative » avec les nombres de base 7 et 8 pour les espèces appartenant au même type biologique : végétaux vivaces (fig. 3 et 4 d).

Entre les trois espèces, *B. rigidum* L. (x = 8, Q ADN = 263 UAF), *B. ranunculoides* L. (x = 7, Q ADN = 200 UAF) et *B. multinerve* DC. (x = 7, Q ADN = 213 UAF), l'indice de t est respectivement de 6,5 et 6 entre la première et les deux autres, alors qu'il n'est que de 1,7 entre les deux dernières. Ce résultat montre bien que l'écart entre *B. rigidum* L. et le groupe *B. multinerve* DC. et *B. ranunculoides* L. est significatif.

Conclusions

Les conclusions tirées de l'étude cytophotométrique d'un très petit nombre d'espèces, sans être généralisables à l'ensemble du genre, permettent toutefois de dégager les enseignements suivants :

1. Des quatre espèces considérées, *B. rigidum* L., la plus riche en ADN, serait la plus primitive puisque, d'après Guervin *et al.* (1975), la réduction suivrait le sens de l'évolution. On peut se demander comment une perte de support de l'information peut correspondre à une évolution non régressive. Bennett (1972) propose l'explication suivante : l'ADN total, donc celui qui est dosé, résulterait de l'association d'une partie informationnelle qui correspond au génotype et d'une autre partie correspondant au « nucléotype » ; celle-ci, sans avoir de rôle primordial s'exprimant au niveau phénotypique, serait cependant à même d'affecter les chromosomes. La perte de cette partie de l'ADN, non indispensable à la transmission de l'information, peut donc effectivement être interprétée comme un critère d'évolution.

2. Par ailleurs, *B. rigidum* L., bien qu'à x = 8, serait à rapprocher plutôt de *B. multinerve* DC. et *B. ranunculoides* L. à x = 7 que de *B. junceum* L. à x = 8 et ceci en raison de leurs quantités d'ADN nucléaire voisines. Ainsi la quantité d'ADN ne semble pas liée au nombre de base mais plutôt au type biologique (vivace pour les trois premières espèces, annuel pour la dernière), donc au niveau d'évolution. Cette conclusion implique qu'il n'existe pas de relation entre le changement du nombre de base et la quantité d'ADN ; ces deux notions, supposées *a priori* étroitement liées, évoluent donc séparément.

3. *B. ranunculoides* L. et *B. multinerve* DC., dont les quantités totales d'ADN nucléaire peuvent être considérées comme identiques, semblent pouvoir dériver d'une même espèce souche (pour laquelle la quantité d'ADN aurait été de l'ordre de 200 UAF) dont l'aire initiale, beaucoup plus vaste que l'aire actuelle de ces deux taxons, se serait secondairement fragmentée.

4. Si l'on admet que, dans un phylum donné, la densité d'ADN la plus élevée est liée aux taxons les plus primitifs, nos résultats tendraient à montrer que, malgré leur proximité apparente, *B. multinerve* DC. serait plus primitif que *B. ranunculoides* L. ce qui est en accord avec la chorologie de ces deux taxons (Cauwet-Marc, 1976).

Les conclusions auxquelles l'étude cytophotométrique de l'ADN nucléaire nous permet d'aboutir, dans les deux domaines que nous nous étions fixés, confortent les hypothèses que nous avions énoncées par ailleurs et apportent d'importants renseignements sur les positions respectives des différents taxons étudiés. Ces résultats plaident donc en faveur de l'utilisation de cette méthode dans une étude phylogénique.

Sans doute peut-on regretter le nombre peu élevé des problèmes abordés ainsi que celui des taxons étudiés. Nous dirons à notre décharge que, pour compenser cela, nous avions soigneusement sélectionnés les uns et les autres et que le but de ce travail était précisément la première approche, dans le genre *Bupleurum* L., d'une technique permettant d'aborder sous un jour nouveau des problèmes biologiques excessivement complexes.

Remerciements

M. le Pr J. L. Hamel a eu l'extrême obligeance de mettre à notre entière disposition le microcytophotomètre du laboratoire de Biologie végétale (Muséum national d'Histoire naturelle de Paris). MM. Cl. Guervin et Cl. Le Coq, toujours disponibles lorsque cela fut nécessaire, aussi bien lors de la réalisation des différentes manipulations que lors de l'interprétation des données au cours de laquelle ils nous firent profiter de leur grande expérience, ont suivi ce travail avec beaucoup de bienveillance. Sans eux celui-ci n'aurait jamais vu le jour ; qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de nos plus chaleureux remerciements.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ali Zade, M. A., et E. M. Achundova, 1970. — The variations of the DNA content in the cell and chromosome of polyploid forms of mulberry (*Morus* L.). *Caryologia*, **23** : 317-320.

Amato, F. d', et S. Avanzi, 1965. — DNA content, DNA synthesis and mitosis in the root apical cell of *Marsilea strigosa*. *Caryologia*, **18** : 383-394.

Bennett, M. D., 1972. — Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proc. R. Soc.*, sér. B, 181 : 109-135.

Bullen, M. R., et H. Rees, 1972. — Nuclear variation within *Avenae*. *Chromosoma*, **39** : 93-100.

Cauwet-Marc, A. M., 1976. — Biosystématique des espèces vivaces de *Bupleurum* L. (*Umbelliferae*) du Bassin méditerranéen occidental. Thèse de Doctorat. Perpignan, 848 p., 12 tabl., 40 pl., 24 cartes, 610 réf.

El Lakany, 1972. — Quantitative variation in DNA as related to ploidy level and species in some wild roses. *Can. J. Genet. Cytol.*, **14** : 347-351.

Garcia, A. M., et R. Ioro, 1966. — Potential source of error twowavelength cytophotometry. *In* : G. L. Wied, Introduction to quantitative cytochemistry. Academic Press, New York : 215-237.

Guervin, C., C. Le Coq et J. Laroche, 1975. — Étude de la garniture chromosomique et des quantités d'ADN nucléaire ; application à l'évolution du genre *Callisia* (Commelinacées). *Caryologia*, **28** (1) : 45-56.

Halka, O., 1964. — A photometric study of the Luzula problem. *Hereditas*, **5** : 81-88.

Kupfer, P., 1974. — Recherches sur les liens de parenté entre la flore orophile des Alpes et celle des Pyrénées. *Boissiera*, **23** : 1-322.

Le Coq, C., 1972. — La mégasporogénèse chez l'*Iris pseudacorus* L. II. Étude cytologique quantitative. *Revue Cytol. Biol. vég.*, **35** : 303-330.

Mello-Sampayo, T., 1961. — Differential polyteny and karyotype evolution in *Luzula* : A critical interpretation of morphological and cytophotometric data. *Genet. iber.*, **13** : 1-22.

Mendelsohn, M. L., 1966. — Absorption cytophotometry : comparative methodology for heterogeneous objects and the twowavelength method. *In* : G. L. Wied, Introduction to quantitative cytochemistry : Academic Press, New York : 201-214.

Nishilhawa, K., et Y. Furula, 1969. — DNA contents per nucleus in relation to phylogeny of wheat and its relative. *Japan J. Gen.*, **44** : 23-29.

Ornstein, L., 1952. — The distributional error in microspectrophotometry. *Lab. Invest.*, **1** : 250-265.

Patau, K., 1952. — Absorption microphotometry of irregular shaped objects. *Chromosoma*, **5** : 341-362.

Probst, F., 1972. — Contribution à l'étude taxonomique du genre *Leucanthemum* par voie cytophotométrique. *Chromosoma*, **36** : 322-328.

Rothfels, D., E. Sexsmitj, M. Heimburger et M. O. Krause, 1966. — Chromosome size and DNA content of species of *Anemone* L. and related genus (*Ranunculaceae*). *Chromosoma*, **20** : 5-474.

Rothfels, D., et M. Heimburger, 1968. — Chromosome size and DNA values in Sundews (*Droseraceae*). *Chromosoma*, **25** : 96-103.

Roux, M., J. Carbonnier et A. M. Cauwet-Marc, 1978. — Un programme d'analyse cladistique. Exemple du genre *Bupleurum* L. Actes du 2e Symposium International sur les Ombellifères (Perpignan). A. M. Cauwet-Marc et J. Carbonnier édit : 575-592.

Snogerup, S., 1962. — Studies in the Aegean Flora IV. *Bupleurum flavum* Forsk. and related species. *Bot. Notiser*, **115** (4) : 357-375.

Sparrow, A. H., H. J. Price, et A. G. Underbrink 1972. — A survey of DNA content per cell and per chromosome of prokariotic and eukariotic organisms : some evolutionary considerations. *Brookhaven symp. Biol.*, **23**, « Evolution of genetic systems » : 451-494.

Manuscrit déposé le 8 décembre 1978.